



TITLE:

# 尿路感染症に対する抗生物質の尿中濃度の意義に関する実験的研究

AUTHOR(S):

三田, 俊彦

---

CITATION:

三田, 俊彦. 尿路感染症に対する抗生物質の尿中濃度の意義に関する実験的研究. 泌尿器科紀要 1973, 19(7): 595-605

ISSUE DATE:

1973-07

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/121544>

RIGHT:

# 尿路感染症に対する抗生物質の尿中濃度の 意義に関する実験的研究

神戸大学医学部泌尿器科学教室（主任：石神襄次教授）

三 田 俊 彦

## SIGNIFICANCE OF THE CONCENTRATION IN URINE OF THE ANTIBIOTICS FOR URINARY TRACT INFECTION : AN EXPERIMENTAL STUDY

Toshihiko Mita

*From the Department of Urology, Kobe University School of Medicine*

*(Director : Prof. J. Ishigami, M. D.)*

An experimental study was made using dogs with cutaneous ureterostomy in order to elucidate the significance of concentration in urine of an antibiotic for urinary tract infection. The antibiotic chosen was cephaloridine (CER).

1. It was proved that CER in the vesical urine was mostly of renal origin and partly of vesical tissue origin.

2. Concentration of CER in the vesical tissue was higher in the intact dogs than in the dogs with ureterostomy. This suggests that the antibiotic in the bladder tissue originates from the blood as well as from the urine in the bladder.

3. Implantation of the cellulose tube containing *E. coli* was made both on the control dogs and dogs with ureterostomy. In the former group, pretty high concentration of CER was proved in the tube in 4 hours resulting in disappearance of the microorganism. In the latter group, however, microorganism decreased but persisted.

4. Experimental cystitis was made both in the control dogs and dogs with ureterostomy, and CER was administered intravenously. The microorganism in the inflammatory vesical tissue was followed by means of bioautography. Inhibition of the growth was observed in 12 hours in the former group but not in the latter group even at 48 hours.

From the above results, concentration of the antibiotics in urine is of great importance, therefore, an antibiotic of choice should be such as one having high urinary excretion rate. On the other hand, the antibiotic in the vesical tissue cannot be ignored because the site of inflammation is tissue itself.

### 緒 言

感染症に化学療法を施行する場合、投与薬剤の各炎症病巣内濃度が重大な意味をもつことは明らかである。その意味から臓器感染に対する各種抗生物質の効果を検索するに当っては、投与薬剤の投与量と、各臓器内では病巣内の薬剤濃度およびその時間的推移が治療効果との関係において論ぜられているのが現状で

ある。しかし尿路感染症においては、投与薬剤は尿路系各臓器内に分布されるのみならず、尿中にも大量排泄され、さらにいったん尿中に排泄された薬剤が尿路粘膜より再吸収されて病巣内に及ぶことも考えられる<sup>1-11)</sup>。この場合、そのいずれが炎症の治療機転に、より有効に働くかを解明することは本症の治療にさいしきわめて意義あることと考えられる。

一般に尿路感染症の治療には尿中排泄率の高く、か

つ体内における不活性化の少ない薬剤が好んで使用されており、さらに種々の合併症を伴った複雑な尿路感染症においては、全身投与の限界性が論ぜられ局所療法的重要性も強調されつつあるのが現状である<sup>12,13)</sup>。

著者は抗生物質を全身投与した場合、尿路感染症に対するその尿中濃度の意義について以下に述べるごとき基礎的実験をおこない、その作用機序について2, 3の知見を加え得たのでここに報告する。

## 研究項目

1. Cephaloridine<sup>30,31)</sup> (以下 CER) 全身投与時の尿中濃度、膀胱組織内濃度および膀胱内細菌の消長
  - a) CER の尿中濃度および膀胱組織内濃度
  - b) CER 投与時の膀胱内細菌の菌量の推移
2. CER 全身投与時における イヌ炎症性膀胱組織内の菌の消長
  - a) Bioautography の基礎的実験
    - 生菌の種類
    - 凍結による生菌数の変動
  - b) Bioautography による イヌ 炎症性膀胱組織内の菌の消長

## 実験方法および成績

抗生物質の尿路感染症に対する、局所炎症巣における作用機序を明らかにする目的でイヌを用い腎より排泄される抗生物質が膀胱壁に直接作用しないように両側尿管皮膚瘻術を施行し (以下尿管皮膚瘻群)、いっぽう排泄尿中の抗生物質も影響を及ぼす無処置犬を対照とし (以下無処置群)、2群に分けて以下に述べるような実験をおこなった (Fig. 1)。

すなわち体重約 10~15 kg のオスの健康成熟犬を用い pentobarbital 15~20 mg/kg 静脈内投与で麻酔<sup>14)</sup>をおこない、下腹部正中切開にて経腹膜的に膀胱および尿管に達し、膀胱より 2~3 cm 腎側にて両側の尿管を切断し、腎側の尿管に採尿の目的でカテーテルを留置し、また膀胱側尿管の左側は結紮し、右側には膀胱内までカテーテルを挿入し、そのカテーテルよりあらかじめ無菌的に蓄尿した正常犬尿を両側尿管より流出する尿量と同じ量を同一時間に膀胱へ注入し、さらに尿道へもカテーテルを留置した。また無処置群にも条件を同じくする意味で同様の麻酔を施し、さらに両群とも 5%ブドウ糖液 500 cc/6 h の割合で点滴静注した。

1. CER 全身投与時の尿中濃度、膀胱組織内濃度および膀胱内細菌の消長

体内に投与された抗生物質が腎より尿中に排泄される膀胱内細菌に直接作用するのか、体液内より膀胱組織

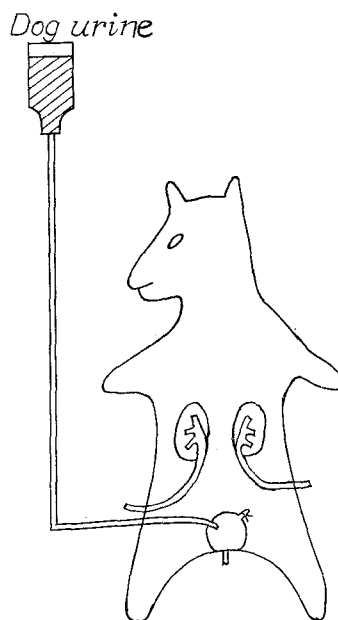


Fig. 1. 実験方法

- 材料：健康成熟犬  
 麻酔：pentobarbital  
 手術：両側尿管皮膚吻合術施行  
         膀胱側右尿管にネラトンチューブを挿入  
 方法：CER 0.5, 1.0 g 静脈内投与  
         ネラトンチューブより正常犬尿を尿管より  
         流出する尿と同じ速度で膀胱へ注入  
         尿管尿と膀胱尿を採取

に移行した抗生物質が作用するのかまだ明らかにされていない。また、両者が同時に作用するとしてもどちらが主役をなすのかも明らかでない。

そこで、尿管皮膚瘻群において尿管尿、膀胱尿 (すなわち、本尿中には実験犬自身の尿は含まれておらず、切断尿管より注入された他犬尿が膀胱粘膜よりの分泌物を混じったのち尿道カテーテルより採取されたものである) 中の CER の濃度および無処置群、尿管皮膚瘻群における膀胱組織内の CER の濃度を検索した。さらに尿中に排泄される抗生物質の膀胱内存在菌に対する態度を比較検討した。

- a) CER の尿中濃度および膀胱組織内濃度

2頭の尿管皮膚瘻群に抗生物質として CER 0.5 g を 5%ブドウ糖 10 cc に溶解、静脈内に投与し、その尿管尿と膀胱尿を採取し、おのおのに含まれる CER の量を測定した。

尿中濃度の測定は薄層 cup 法にて測定し、検定菌株として *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を使用し、標準曲線には pH 6.0 のリン酸緩衝液を用いた。以下 CER の測定はいずれも上記方法によった。

Table 1. 尿管と膀胱より排泄される抗生物質濃度 CER 0.5 g 静注投与

|       |     |              | 1      | 2      | 4       | 6       | 8       | 総排泄量   |
|-------|-----|--------------|--------|--------|---------|---------|---------|--------|
| No. 1 | 尿管尿 | 尿 量 381cc    | 228 mg | 165 mg | 67.2 mg | 56.7 mg | 42.1 mg | 559.0  |
|       | 膀胱尿 | 注入したイヌ尿量 558 | 0      | 0      | 0       | 0       | 0       | 0      |
| No. 2 | 尿管尿 | 尿 量 240      | 90.2   | 264    | 155     | 50.3    | 16.7    | 576.2  |
|       | 膀胱尿 | 注入したイヌ尿量 220 | 0.0007 | 0.064  | 0.180   | 0.115   | 0.054   | 0.4137 |

1頭の尿管尿における CER の排泄量は、1時間 228 mg, 1～2時間 165 mg, 2～4時間 67.2 mg, 4～6時間 56.7 mg, 6～8時間 42.1 mg, 8時間の総排泄量は 559.0 mg と本剤の尿中への排泄はきわめて良好であった。いっぽう膀胱尿より注入した膀胱尿中の CER, すなわち血中より膀胱組織を介して尿道より採取された尿中へ移行した CER は全く認められなかった。他の1頭における尿管尿の CER の量は、1時間 90.2 mg, 1～2時間 264 mg, 2～4時間 155 mg, 4～6時間 50.3 mg, 6～8時間 16.7 mg で、8時間の総排泄量は 576.2 mg と前者と同様に尿中への排泄はきわめて良好である。また膀胱尿にはきわめて微量であるが CER の排泄が認められた。すなわち投与後1時間 0.7 r, 1～2時間 64 r, 2～4時間 180 r, 4～6時間 115 r, 6～8時間 54 r で8時間の総排泄量は 413.7 r となり、4時間、6時間後にピークを示した (Table 1)。

#### 膀胱組織内濃度

尿管皮膚瘻群、無処置群の両群おのおの4頭ずつに CER 1g を5%ブドウ糖 10 cc に溶解、静注投与し、6時間、12時間後におのおの2頭の膀胱を摘出し、CER の組織内濃度を測定した。

組織内濃度の測定方法は摘出膀胱を直ちに 250 cc 滅菌生理食塩水にて4回洗浄し、膀胱壁に付着する薬剤をじゅうぶんに除去した。なお、最終回洗浄液より CER は上述の生物学的測定法では検出されなかった。つぎに膀胱壁全層をクレオスタットで 10～20  $\mu$  の細片にし、pH 6.0 のリン酸緩衝液で溶解し、ガラスホモゲナイザーでホモゲネートしたのち遠沈させ、その上澄液について上述の生物学的測定法により CER の量を測定した。

Table 2 に示すごとく無処置群の膀胱組織内濃度は6時間後でおのおの 10.58 mcg/g, 11.0 mcg/g, 12時間後で 7.50 mcg/g, 7.71 mcg/g, いっぽう尿管皮膚瘻群では投与後おのおの6時間、2.04 mcg/g, 1.81 mcg/g, 12時間 0.35 mcg/g, 1.55 mcg/g で両群の間にかかなりの差が認められた。

#### b) CER 投与時の膀胱内細菌の菌量の推移

膀胱尿中の細菌の推移は、膀胱尿が流動性で細菌が

Table 2. 膀胱組織内濃度 CER 1g 1回静注

| Dog    | 時間(h)                      |                          |
|--------|----------------------------|--------------------------|
|        | 6                          | 12                       |
| 尿管皮膚瘻群 | 2.04 mcg/g<br>1.81 mcg/g   | 0.35 mcg/g<br>1.55 mcg/g |
| 無処置群   | 10.58 mcg/g<br>11.00 mcg/g | 7.50 mcg/g<br>7.71 mcg/g |

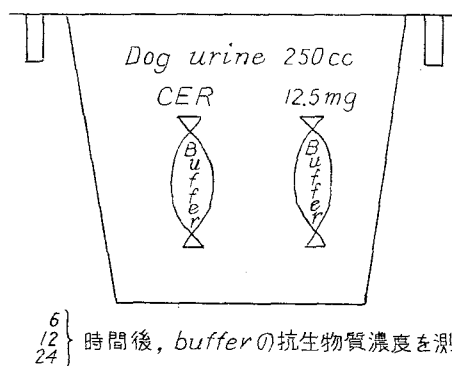


Fig. 2. 予備実験 セルローズチューブへの抗生物質の移行に関する実験

尿道より流出され、なんらかの方法を用いなければ *in vivo* における実験は困難である。そこで網目 24Å で水および CER (分子量415.5) 等の低分子は自由に透過するが、蛋白質のような高分子化合物または細菌などは透過しない Visking 社製セルローズチューブ内に細菌を注入して、いわゆる菌液を含むセルローズチューブを作製し、以下の検討を加えた。まず、セルローズチューブにおける CER および細菌の透過性の有無およびその程度を知る目的でつぎのような予備実験をおこなった。

容量 300 cc のフラスコをあらかじめ滅菌し、無菌的に採取したイヌの尿 250 cc を注入し、CER 12.5 mg を注入した。すなわちこの尿中には 50 mcg/ml の CER が含まれている。別にあらかじめガス滅菌したセルローズチューブ内に pH 6.2 の滅菌リン酸緩衝液 1.0 cc を注入し両端を折り曲げ二重結紮にて密封しこのセルローズチューブをフラスコ内のイヌ尿中へ入れ、セルローズチューブ内への CER の移行をみるため、リン酸緩衝液中の CER の濃度を 6時間、12時間

Table 3. セルローズチューブ内 buffer の抗生物質濃度 mcg/ml

| Sample    | 時間(h) | 6  | 12 | 24 |
|-----------|-------|----|----|----|
| A tube    |       | 50 | 50 | 50 |
| B tube    |       | 50 | 50 | 50 |
| Dog urine |       | 50 | 50 | 50 |

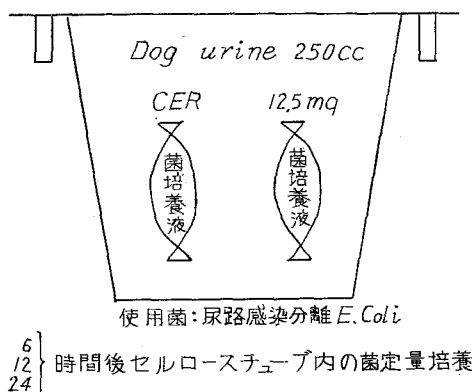


Fig. 3

間、24時間後に測定した (Fig. 2).

その結果は Table 3 に示すごとく、すべてのチューブに CER を 50 mcg/ml 測定した。これによって明らかにセルローズチューブ内へ少なくとも6時間以内にイヌ尿中と同じ濃度になるまで CER が移行することが認められた。

つぎに上述セルローズチューブ内に尿路感染症より分離した *E. coli* [各種抗生物質に対する最小発育阻止濃度は CER 6.25 mcg/ml, kamamycin (以下 KM) 12.5 mcg/ml, aminobenzylpenicillin (以下 AB-PC) 3.13 mcg/ml, chloramphenicol (以下 CP) 12.5 mcg/ml, streptomycin (以下 SM) 6.25 mcg/ml を示した] 1 白金耳をハートインフュージョンブロス10.0 cc で16時間培養し、菌量 $>10^8$ /ml の *E. coli* 含有液を作製した。この菌含有液を 1.0 cc セルローズチューブ内に注入し、さらにこのチューブを上述のごときフラスコ内の CER 含有のイヌ尿中へ入れ6時間、12時間、24時間後に取り出しチューブ内の培養液を寒天平板上に貼付し17時間培養し、菌の有無を検討した (Fig. 3)。

その結果全チューブ内の菌は検出できなかった (Table 4)。すなわち *E. coli* はフラスコ中の尿中に含まれる CER のチューブ内への移行によって発育を阻止されたと考えられる。

さらに尿路感染分離 *E. coli* 1 白金耳をハートインフュージョンブロス 10.0 cc で2段培養し、その 1.0

Table 4. セルローズチューブ内菌定量培養  
寒天平板 17時間培養

| Sample    | 時間(h) | 6 | 12 | 24 |
|-----------|-------|---|----|----|
| A tube    |       | — | —  | —  |
| B tube    |       | — | —  | —  |
| Dog urine |       | — | —  | —  |

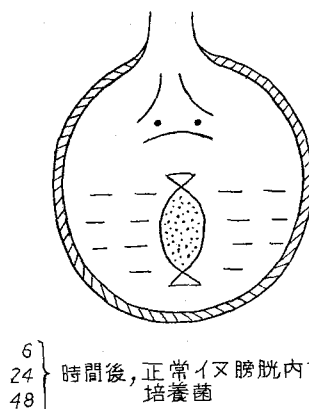


Fig. 4. イヌ膀胱内に植え込んだセルローズチューブ内の菌の増殖状態

| セルローズチューブ内の菌定量培養 コ/ml |        |        |        |
|-----------------------|--------|--------|--------|
| 時間(h)                 | 6      | 24     | 48     |
| A tube                | $10^4$ | $10^6$ | $10^6$ |
| B tube                | $10^4$ | $10^6$ | $10^6$ |

cc をチューブ内に注入した。この場合チューブ内液の菌量は定量培養にて  $10^3$ /ml であった。いっぽう約 10~15 kg のオス成犬を pentobarbital にて静脈麻酔し、下腹部正中切開にて膀胱を露出し高位切開にて膀胱を開き、上述チューブを膀胱内へ入れ、膀胱を縫合後、6、24、48時間群おのおの2頭ずつ計6頭についておのおのの時間にチューブを取り出し、その中の液の 1 cc 当りの菌量を平板培養法にて定量培養した。

その結果6時間後では2頭ともに  $10^4$ /ml、24時間後では2頭ともに  $10^6$ /ml、48時間後においても同様 $10^6$ /ml の菌を定量できた (Fig. 4)。なおこの間、膀胱尿中の同菌の検索をおこなったがそのいずれも菌の検出は認められなかった。

以上の予備実験よりこのセルローズチューブは *E. coli* を透過しないが、イヌ尿中の CER はチューブを透過し、その中の細菌の発育を阻止するに足る濃度までに移行すること、また膀胱内の尿中に含まれる細菌は孵卵器中の培養状態にはやや劣るが、経時的に菌量の増加を示すことが明らかとなった。そこでこのよう

なチューブを膀胱内に植込み、無処置群、尿管皮膚瘻群について同一条件下における菌量の変化を経時的に観察した。

予備実験と同様にイヌ膀胱内に上記 *E. coli*  $10^8$ /ml 以上を含んだ菌培養液を注入したセルローズチューブを植込み、4, 12, 24時間後に取り出し、菌の定量培養をおこなった。なお4時間群、12時間群には植込み直後に CER を 0.5 g 1回 one shot にて、また24時間群においては植込み直後および12時間後の2回のおの CER 0.5 g one shot で静注投与した。

結果は Table 5 に示すように4時間群における菌量の推移は尿管皮膚瘻群では  $10^8$ /ml 以上の菌量から  $10^4$ /ml および  $10^6$ /ml と菌量の減少を認めた。いっぽう無処置群では植込み前  $10^8$ /ml 以上の菌量が全く菌陰性となった。12時間群における菌量の推移は尿管皮膚瘻群では  $10^8$ /ml 以上から  $10^6$ /ml と菌量の減少、

Table 5. CER 投与時の無処置群、両側尿管皮膚瘻群における膀胱内へ植え込んだセルローズチューブ内の菌量の推移

4時間後の菌量の推移

| Dog    | tube | 前              |              | 後              |              |
|--------|------|----------------|--------------|----------------|--------------|
|        |      | 培養             | 定量培養<br>コ/ml | 培養             | 定量培養<br>コ/ml |
| 尿管皮膚瘻群 | A    | <i>E. coli</i> | $>10^8$      | <i>E. coli</i> | $10^4$       |
|        | B    | <i>E. coli</i> | $>10^8$      | <i>E. coli</i> | $10^6$       |
| 無処置群   | A    | <i>E. coli</i> | $>10^8$      | (-)            | (-)          |
|        | B    | <i>E. coli</i> | $>10^8$      | (-)            | (-)          |

培養：ハートインフュージョン培地 17時間培養  
菌定量培養：平板培養法

12時間後の菌量の推移

| Dog    | tube | 前              |              | 後              |              |
|--------|------|----------------|--------------|----------------|--------------|
|        |      | 培養             | 定量培養<br>コ/ml | 培養             | 定量培養<br>コ/ml |
| 尿管皮膚瘻群 | A    | <i>E. coli</i> | $>10^8$      | <i>E. coli</i> | $10^6$       |
|        | B    | <i>E. coli</i> | $>10^8$      | (-)            | (-)          |
| 無処置群   | A    | <i>E. coli</i> | $>10^8$      | (-)            | (-)          |
|        | B    | <i>E. coli</i> | $>10^8$      | (-)            | (-)          |

24時間後の菌量の推移

| Dog    | tube | 前              |              | 後              |              |
|--------|------|----------------|--------------|----------------|--------------|
|        |      | 培養             | 定量培養<br>コ/ml | 培養             | 定量培養<br>コ/ml |
| 尿管皮膚瘻群 | A    | <i>E. coli</i> | $>10^8$      | <i>E. coli</i> | $10^4$       |
|        | B    | <i>E. coli</i> | $>10^8$      | <i>E. coli</i> | $10^4$       |
| 無処置群   | A    | <i>E. coli</i> | $>10^8$      | (-)            | (-)          |
|        | B    | <i>E. coli</i> | $>10^8$      | (-)            | (-)          |

また他のイヌでは  $10^8$ /ml 以上から陰性となった。無処置群では4時間群同様12時間群でも2頭とも陰性であった。24時間群における菌量の推移は尿管皮膚瘻群では2頭とも  $10^4$ /ml と減少を認めたが陰性化は認めなかった。いっぽう無処置群では4時間、12時間群と同様、菌の陰性化を認めた。

2. CER 全身投与時におけるイヌ炎症性膀胱組織内の菌の消長

1. の実験より、尿路感染症の化学療法において尿中に含まれる抗生物質の膀胱内細菌に対する有用性が確認されたが、ついで炎症性膀胱組織内の菌に対する態度を明らかにするため、イヌに実験的膀胱炎を惹起させ、無処置群と、尿管皮膚瘻群に分けて、膀胱組織内の菌の消長を bioautography によって比較検討した。

a) Bioautography の予備実験

Tubaro と Bulgini<sup>16)</sup>、高瀬ら<sup>16), 17)</sup> は *in vivo* における抗生物質を検討するのに bioautography が有用であると述べているが、その基礎的実験については詳細に述べていない。そこで、本法を用いる前にその予備実験として、生菌の種類、凍結による生菌数の変動について検討した。

すなわち①*Pseudomonas aeruginosa* Tsuchijima, ②*Klebsiella* SP No. 13, ③ *E. coli* O78, ④ *Proteus mirabilis* P-74, ⑤ *Proteus vulgaris* P-49, ⑥ *Proteus rettgeri* P-112, ⑦ *Proteus morganii* Kono, ⑧ *Staphylococcus aureus* 209P, ⑨ 上述臨床分離 *E. coli* の9株について  $10^6$  浮遊液を滅菌濾紙に貼付し 37°C 18時間培養し、その飽和リン酸ソーダ溶液で溶解した 0.1% triphenyl tetrazolium chloride 液を噴霧し、生菌の staining の状態を観察した。

staining の良さは *E. coli*, *Staphylococcus aureus* 209P, *Klebsiella* SP No. 13, *Pseudomonas aeruginosa* Tsuchijima, *Proteus*, の順に認められた。しかしいずれの菌株においても良好な staining が認められた。また同様にウサギの腎切片 (400  $\mu$ ) および膀胱切片 (400  $\mu$ ) 上に各種菌株を貼付し、同様の操作を加え、bioautography の状態を観察したところ同様の結果を得た (Photo. 1)。したがって bioautography の実験には菌種によって多少の staining に差はあるが、どの菌株にも応用できることが確認された。

つぎに上記予備実験に使用した各種菌株の  $10^7$  浮遊液を作製し、おのおの7本の試験管に 10 cc ずつ分注した。このさい分注した各試験管ごとに菌数計算を施行したが分注誤差は認めなかった。つぎに各分注浮遊液を凍結させ、1, 3, 4, 5, 6, 24時間後に菌数計算を平板培養法にて測定した。

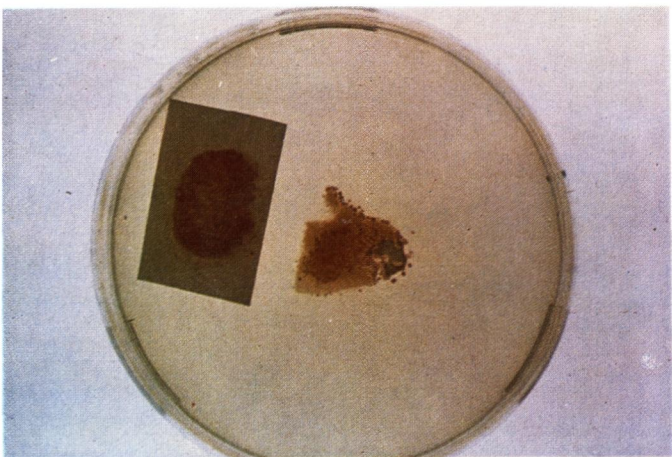


Photo. 1. 濾紙および腎切片上の *E. coli* の staining.

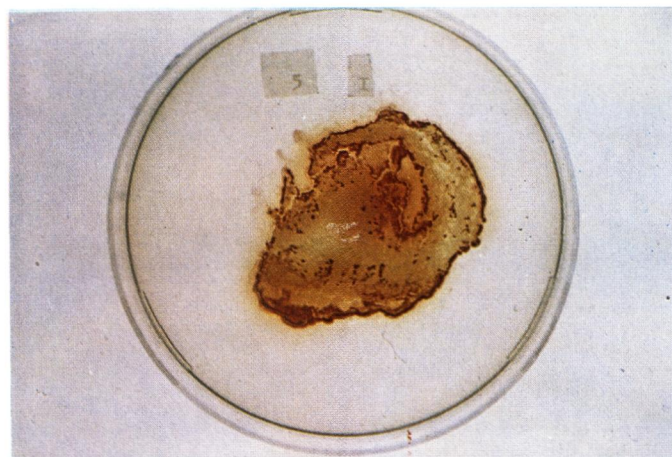


Photo. 2. CER 未投与時の bioautogram

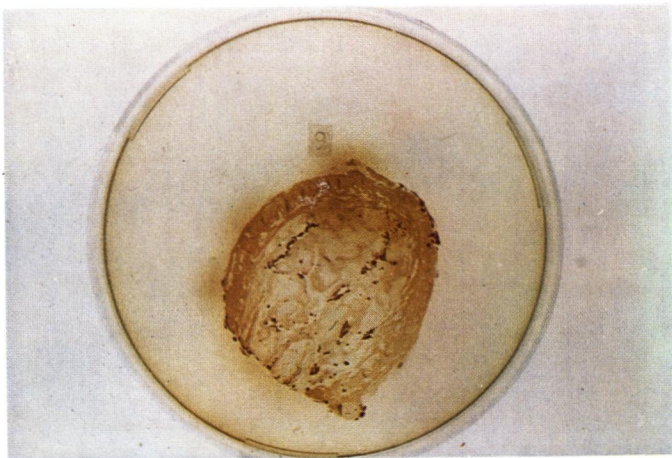


Photo. 3. CER 全身投与 6 時間後の bioautogram 無処置群

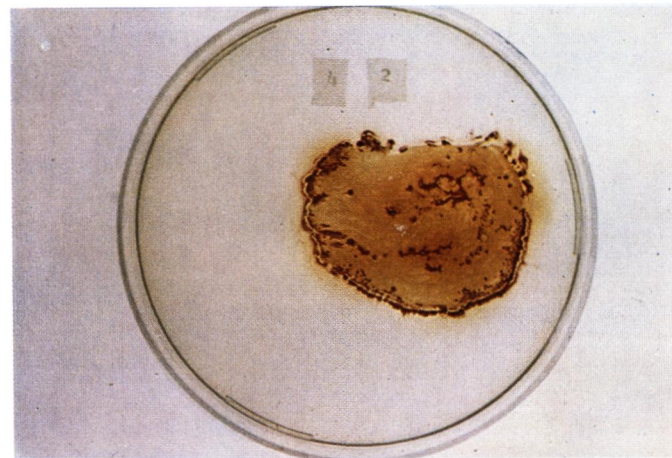


Photo. 4. 尿管皮膚瘻群



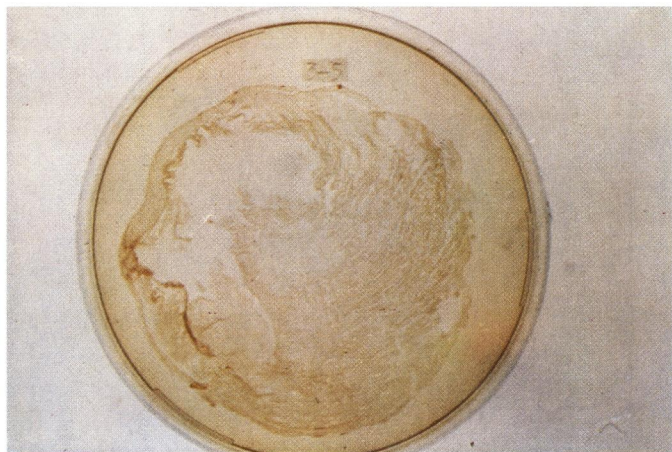


Photo. 5. CER 全身投与12時間後の bioautogram 無処置群



Photo. 6. 尿管皮膚瘻群

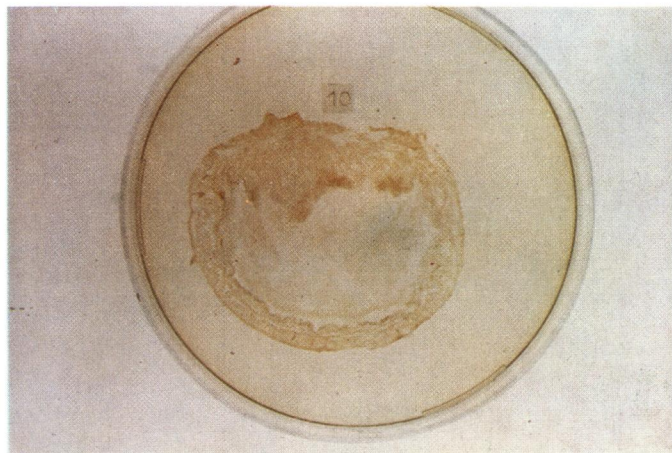


Photo. 7. CER 全身投与24時間後の bioautogram 無処置群



Photo. 8. 尿管皮膚瘻群



Table 6. 凍結による生菌数の変動

| 時間(h)                                    | 0                 | 1                 | 3                 | 4                 | 5                 | 6                 | 24                |
|--|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| <i>Klebsiella</i> SP No. 13              | $4.0 \times 10^7$ | $1.4 \times 10^7$ | $1.2 \times 10^7$ | $3.6 \times 10^7$ | $2.6 \times 10^7$ | $2.2 \times 10^7$ | $4.1 \times 10^7$ |
| <i>Proteus morganii</i> Kono             | $4.0 \times 10^7$ | $3.7 \times 10^7$ | $3.2 \times 10^7$ | $5.2 \times 10^7$ | $3.9 \times 10^7$ | $3.3 \times 10^7$ | $2.9 \times 10^7$ |
| <i>Proteus rettgeri</i> P112             | $2.9 \times 10^7$ | $2.8 \times 10^7$ | $1.9 \times 10^7$ | $2.7 \times 10^7$ | $2.5 \times 10^7$ | $2.6 \times 10^7$ | $3.7 \times 10^7$ |
| <i>Proteus vulgaris</i> P49              | $4.8 \times 10^7$ | $5.0 \times 10^7$ | $5.9 \times 10^7$ | $5.6 \times 10^7$ | $5.1 \times 10^7$ | $4.5 \times 10^7$ | $4.7 \times 10^7$ |
| <i>Proteus mirabilis</i> P74             | $2.8 \times 10^7$ | $2.7 \times 10^7$ | $3.1 \times 10^7$ | $4.3 \times 10^7$ | $2.7 \times 10^7$ | $3.0 \times 10^7$ | $3.8 \times 10^7$ |
| <i>E. coli</i> O78                       | $2.8 \times 10^7$ | $2.1 \times 10^7$ | $1.6 \times 10^7$ | $2.2 \times 10^7$ | $2.0 \times 10^7$ | $1.7 \times 10^7$ | $1.5 \times 10^7$ |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Tsuchijima | $3.6 \times 10^7$ | $3.2 \times 10^7$ | $3.6 \times 10^7$ | $3.5 \times 10^7$ | $3.8 \times 10^7$ | $3.3 \times 10^7$ | $3.7 \times 10^7$ |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 209P        | $2.8 \times 10^7$ | $2.9 \times 10^7$ | $2.8 \times 10^7$ | $2.7 \times 10^7$ | $2.8 \times 10^7$ | $2.6 \times 10^7$ | $2.8 \times 10^7$ |
| 臨床分離 <i>E. coli</i>                      | $3.4 \times 10^7$ | $3.4 \times 10^7$ | $3.4 \times 10^7$ | $3.5 \times 10^7$ | $3.3 \times 10^7$ | $3.5 \times 10^7$ | $3.4 \times 10^7$ |

その結果 Table 6 のように24時間以内ではすべての菌において生菌数には変動はなく、凍結による影響は認められなかった。

b) Bioautography によるイヌ炎症性膀胱組織内の菌の消長

1. の実験により CER の全身投与時の尿中排泄率、膀胱組織内濃度はかなり良好であることが判明したが、全身に投与された本剤が膀胱粘膜、筋層、漿膜層に侵襲している菌にいかなる働きをするか明らかにするため、CER を全身投与し無処置群、尿管皮膚瘻群についてその炎症膀胱組織を bioautography によって比較検討した。

Table 7. イヌにおける膀胱炎惹起方法

|   |
|---|
| 材 料：健康成熟犬   |
| 麻 酔：Pentobarbital   |
| 方 法：Ether を尿道より 30 cc 3 分間注入<br>滅菌蒸留水でよく洗浄<br>尿路感染症例より分離した <i>E. coli</i> 培養液を 30 cc 注入し 3 日間血膿尿、頻尿の状態を観察してから各実験に使用                       |
| 使用菌：尿路感染症より分離した菌 <i>E. coli</i><br>各種抗生物質に対する MIC<br>CER 6.25 mcg/ml・KM 12.5 mcg/ml<br>AB-PC 3.13 mcg/ml・CP 12.5 mcg/ml<br>SM 6.25 mcg/ml |

炎症性膀胱の作製は、西村らの報告<sup>16)</sup>を modify し、体重 10~15 kg の健康成熟犬を用い、pentobarbital にて麻酔し、エーテルを尿道より 30 cc 3 分間注入後、滅菌蒸留水でよく洗浄し、前述の尿路感染分離 *E. coli* の菌量  $10^6$ /ml の培養液を 30 cc 注入し、3 日間血膿尿、頻尿の状態を観察し、明らかに膀胱炎が惹起できたのを確かめた (Table 7)。

bioautography の作製は高瀬らの方法<sup>16,17)</sup>に従っ

た。すなわち 2 群に分けた膀胱炎惹起犬におおの初回 CER 1.0 g 以後 12 時間ごと 0.5 g one shot 静注投与し、6, 12, 24, 48 時間後に膀胱を摘出した。

摘出標本は滅菌生理食塩水でよく洗浄し、直ちにドライアイス中で凍結し、凍結後少なくとも 5 時間以内にマイクロームで約 400  $\mu$  の厚さに切片を作製し、その切片をハートインフュージョンアガールの寒天平板上に貼付し、37°C、18 時間培養後、飽和リン酸ソーダ ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) で溶解した 0.1% triphenyl tetrazorium chloride (以下 TTC) 液を噴霧し、組織内の生菌による TTC の発色の有無およびその程度を観察した (Table 8)。

Table 8. Bioautography の作製法

|   |
|---|
| 試験犬                                       |
| ←膀胱炎惹起                                    |
| ←両側尿管皮膚瘻設置、無処置                            |
| ←CER 静注                                   |
| ←6 時間、12 時間、24 時間、48 時間膀胱を摘出、ドライアイス中で凍結   |
| ←マイクロームで切片作製                              |
| 切片 (約 400 $\mu$ )                         |
| ←寒天平板上に貼付                                 |
| ←培養                                       |
| ←0.1% Triphenyl tetrazorium chloride 液で染色 |
| 観 察                                       |

対照とした CER を投与しない膀胱炎惹起の bioautography (Photo. 2) は全体に staining されたコロニーを一面に認めた。

CER 投与 6 時間後の bioautography

無処置群は対照に比し staining されたコロニーがまばらにしか認められなかった (Photo. 3)。尿管皮膚

瘻群では無処置群に比し、ややコロニーが多く認められた (Photo. 4).

#### 12時間後の bioautography

無処置群は全く発色が認められず、完全に菌が消失していると考えられる (Photo. 5). 尿管皮膚瘻群は6時間後のこの群に比し、かなりの生育阻止が認められるが、同時間の無処置群に比し staining されたコロニーが多い (Photo. 6).

#### 24時間後の bioautography

無処置群は12時間後のこの群と同様にコロニーは認められない (Photo. 7). 尿管皮膚瘻群は12時間後のこの群より staining されたコロニーはやや減少しているがなお認めた (Photo. 8).

#### 48時間後の bioautography

両群ともに staining されたコロニーは認められず、完全に生菌が消失したものと考えられる.

### 総括および考察

一般に感染症に対して抗生物質治療をおこなうにさいし、その最小有効投与量を決定することはじゅうぶんな臨床効果を発揮し、かつ副作用をできる限り防ぐ意味からもきわめて重要な問題である. しかしこの点については抗菌力および投与後の血中濃度、臓器内濃度、尿中濃度などの *in vitro* の実験成績の結果が主として論ぜられており宿主である感染対象についての検索はわずかに感染防御に関する実験がおこなわれているに過ぎない. 数多くの臨床データより総合して割り出したものはあるが、*in vivo* の実験によるものは皆無といってよいほど見当らない. さらに尿路感染症に対する化学療法剤の作用機序を解明するための実験はきわめて少なく、わずかに西村・河村 (1968)<sup>18)</sup>、足立 (1972)<sup>19)</sup> が報告しているに過ぎない. 西村・河村は尿中抗生物質の意義について、抗生物質の膀胱内注入による壁内移行に関し基礎的実験をおこなっている. かれらは尿管皮膚瘻を設置した空置膀胱を正常膀胱と、エーテルで誘発した炎症膀胱<sup>20,29)</sup> とに分け、比較的尿中に高い排泄率をもつサルファ剤である sulfamethizol を注入し、膀胱組織内移行を検討している. その結果、正常膀胱犬では9例中4例に、炎症性膀胱犬では全例 (10例) に高濃度の sulamethizole の組織内移行を認めたと報告している. したがって膀胱炎の化学療法では尿中より膀胱壁へ再吸収された薬剤も組織内細菌に対して強い抗菌作用をもつもので、その意味から尿中濃度の高い抗生物質がより有効であると述べている.

また足立は抗生物質全身投与のさいの尿中に排泄さ

れた抗生物質の膀胱組織への移行性を検討するため、尿管瘻設置群と、無処置群に分け膀胱組織内濃度を測定している. 正常膀胱では両者の間に差を認めないが、膀胱炎を惹起したものでは無処置群は尿管瘻設置群に比して組織への移行はきわめて良好であり、尿路感染症の化学療法には尿中濃度の高い薬剤がより有効であると述べている.

著者は尿路感染症に対する化学療法剤の尿中濃度の意義について、2, 3の実験をおこない、化学療法剤の作用機序について検討を加えた. まず、膀胱尿に含まれる抗生物質の由来について検討を加えてみた. もし膀胱に貯留した尿に含まれる抗生物質がすべて腎由来のものであれば、必然的に尿中排泄の良好な抗生物質を使用すべきことになる. 腎より尿中に排泄される抗生物質の量と、血中より膀胱組織を介し膀胱粘膜より膀胱に貯留された尿に分泌される抗生物質の量とを比較検討する目的で2頭のイヌにおいて、尿管皮膚瘻群の、尿管尿と膀胱尿に含まれる抗生物質の排泄量を比較測定した.

その結果は実験成績に示すごとく1頭のイヌでは CER 0.5 g 静注投与で腎より排泄される量は 559 mg/8h ときわめて良好な排泄を認めた. いっぽう膀胱尿は血中→膀胱組織→膀胱尿への移行がきわめて微量であったためか検出されなかった.

他の1頭では前犬と同様に腎より排泄された CER は 576 mg/8h ときわめて良好であった. いっぽう膀胱尿においては 0.4137 mg/8h ときわめて微量に検出できた.

さらに膀胱組織内に含まれる抗生物質の由来についても検討した.

抗生物質を全身投与した場合膀胱組織に含まれる抗生物質は血中より膀胱組織への経路と、腎より排泄され膀胱へ貯留した薬剤が膀胱粘膜を通して組織へ移行する2つの経路が考えられる.

著者はこの点を調べるため尿管皮膚瘻群と無処置群において膀胱組織内濃度をしらべた. 尿中よりの再吸収を遮断して直接血中より膀胱組織へと移行する条件を満たした尿管皮膚瘻群では6時間後 2.04 mcg/g, 1.84 mcg/g, 12時間後 0.35 mcg/g, 1.55 mcg/g と組織内濃度は低かった. 無処置群では6時間 10.58 mcg/g, 11.0 mcg/g, 12時間後 7.50 mcg/g, 7.71 mcg/g と前者に比して組織内濃度は高く認められた.

以上より抗生物質の膀胱組織への経路としては上記2経路があるものと考えられるが、足立らは著者と同様の実験犬を用い正常膀胱と炎症膀胱において tetracycline (以下 TC) 50 mg/kg 静注投与90分後の膀胱

組織への TC の移行性をしらべ、正常膀胱における尿管皮膚瘻群の TC の組織内濃度は  $32.9 \pm 9.5$  mcg/g、無処置群のそれは  $35.6 \pm 6.2$  mcg/g であり両群の間には有意の差を認めないと報告している。以上の足立らの実験成績は著者の CER についての結果とやや異なっているがこの原因については、使用した抗生物質の組織浸透度の差異や測定時間の差によるものと考えられるが、今後なお検討すべき点であろう。

以上の実験より、抗生物質を全身投与した場合、膀胱に貯留された尿中に含まれる抗生物質の由来はほとんど大部分が腎由来のものであり、血中→膀胱組織→膀胱尿への移行はほとんどないかあってもきわめて微量であることが明らかとなった。したがって膀胱尿中に含まれる細菌にその菌の最小発育阻止濃度を上まわる抗生物質を作用させるためには、その濃度以上の尿中排泄をきたす抗生物質がより有効であると考えられる。

さらに抗生物質はじゅうぶん透過するが細菌は透過しないセルローズチューブを用い、それを膀胱内へ植え込み、尿中に排泄される抗生物質および膀胱尿中にふくまれる細菌の動態を検索した。

セルローズチューブへの抗生物質移行性の有無については、CER の分子量が415.5であること、セルローズチューブの網目の大きさが  $24\text{\AA}$  である点、さらに著者の予備実験から立証された。また膀胱内に植え込んだセルローズチューブ内での菌の増殖状態も孵卵器内よりやや劣るが良好であることが予備実験より認められた。

そこでイヌ膀胱に植え込んだセルローズチューブ内の CER 全身投与前後の菌量を測定した。

この結果、無処置群ではすでに4時間において菌の消失を認めているが、尿管皮膚瘻群では、CER 投与前の菌量  $>10^8/\text{ml}$  値から投与後4時間ではおのおの  $10^4/\text{ml}$ ,  $10^6/\text{ml}$ , 12時間後では  $10^6/\text{ml}$ , (—), 24時間後では  $10^4/\text{ml}$ ,  $10^4/\text{ml}$  と菌量の減少を認めるが1例を除いて菌の消失は認めなかった。

本実験より、腎より尿中に排泄される抗生物質が膀胱尿内に含まれる細菌に対してもっとも強い作用を示すことは明らかである。

しかし尿管皮膚瘻群においても菌量の減少を認める点から、血中→膀胱組織→膀胱尿へと移行する抗生物質の作用も見のがせない。

いっぽう生菌の脱水素酵素の作用により可溶性無色の triphenyl tetrazorium chloride が還元されて発色する TTC test の原理を応用した bioautography は1967年 Tubaro および Bulgini が最初に報告し、

その後1969年高瀬らが追試験をおこない動物における抗生物質の臓器移行をしらべるのにすぐれた方法であると述べている。Tubaro および Bulgini さらに高瀬らは bioautography の作製の手順については詳細に述べ、抗生物質の分布状態を検討するには bioautography が有効であるとしているが、その菌種による差、各種条件による変化など本実験の施行に重要な基礎的検討は全くされていない。

すなわち Tubaro および Bulgini は *Staphylococcus pyogenes aureus* NTCC 8369 を使用し、満足しうる staining を得ているし、いっぽう高瀬らも検定菌としては検討する薬剤に感受性の良好な菌株を選択することが重要でありしかも運動性のない菌であることを必要としているが、別に菌の種類によって staining が悪いということは述べていない。

陰山<sup>12)</sup>はこの bioautography を使用し、イヌにおいて実験的に膀胱炎を惹起し、膀胱内に抗生物質を注入し膀胱組織内における生菌の消長を観察している。すなわち膀胱組織内の生菌に対して4時間以内に菌の生育阻止が始まり、16時間以内に最高に達すると述べ、局所療法の有用性を確認している。

そこであらかじめ実験に使用する生菌の種類、凍結による生菌数の変動について予備の実験を加えてみた。生菌の種類として *Pseudomonas aeruginosa* Tuchijima, *Klebsiella* SP-No. 13, *E. coli* O78, *Proteus mirabilis* P74, *Proteus vulgaris* P-49, *Proteus rettgeri* P-112, *Proteus morganii* Kono, *Staphylococcus aureus* 209P の標準株8株とさらに臨床尿路感染症より分離した *E. coli* の計9株を使用し、生菌の staining の状態を濾紙および腎切片および膀胱切片上で観察した。staining の状態にいくぶん差はあるが、どの菌においてもほぼ良好な staining の状態を認めることができた。すでに臨床的に応用されている TTC test<sup>28)</sup> においても菌の種類は発色に関係がないということが報告されているが<sup>21~27)</sup>, bioautography においても同様の結果が確認された。さらに切片の製作にさいして凍結することが必要であることから凍結による生菌数の変動をしらべた。前記実験に使用した菌株において凍結後4, 5, 6, 24時間における生菌数の変動をしらべたが菌量に変化を認めなかった。

以上の予備的検討の結果、著者は本法を応用し、イヌに実験的膀胱炎を惹起させ抗生物質を全身投与し膀胱に抗生物質を含んだ尿を通過させる無処置群と、通過させない尿管皮膚瘻群とに分けて膀胱組織内の菌の消長を比較検討した。その結果、両群の間には6時間

後においてすでに差異を認めた。すなわち無処置群ではすでに6時間後において菌の生育阻止を認めるが尿管皮膚瘻群では菌の生育阻止はじゅうぶんではなく、12時間、24時間後においても同様で、48時間後においてはじめて尿管皮膚瘻群に生菌の生育阻止が認められた。

本実験により、抗生物質を含んだ尿が膀胱を通過するか、しないかで膀胱組織内の菌の消失状態に明らかな差のあることが認められた。しかし膀胱内に抗生物質を含んだ尿を通過させない状態においても48時間後に生菌の生育阻止が認められたことから、抗生物質を全身投与した場合、血中より膀胱組織内へ移行した抗生物質も膀胱粘膜の菌に対しある程度の発育阻止作用をもつことが認められる。

以上著者は1.および2.の実験より、全身投与により尿中に排泄される抗生物質の濃度がきわめて重要であることを確認した。

## 結 語

著者は尿路感染症に対する抗生物質の尿中濃度の意義について明らかにする目的で尿管皮膚瘻設置犬を用い、2, 3の基礎的実験をおこない、つぎのような結果を得た。なお、抗生物質としてはCERを用いた。

1. 膀胱に貯留する尿中のCERの大部分は腎由来のものであり、ごく一部血中→膀胱組織→膀胱尿由来のものである。

2. CERを全身投与した場合の膀胱組織内濃度は、無処置群が尿管皮膚瘻群に比して高濃度である。したがって膀胱組織に含まれる抗生物質の由来は血中を介して膀胱組織へ移行するものと、尿中に排泄された抗生物質がふたたび膀胱粘膜をとおして組織へ移行するものとが考えられる。

3. 膀胱内セルローズチューブ植え込み犬において、CERを含んだ尿が膀胱を通過する場合と、通過しない場合とでセルローズチューブ内の菌量の変化に明らかな差異を認めた。すなわち通過する場合4時間後にはセルローズチューブ内に高濃度のCERが移行し、菌の消失を認めた。通過しない場合菌量の減少は認めたが消失は認めなかった。

4. 実験的に膀胱炎を惹起させたイヌにおいて無処置群、尿管皮膚瘻群に分けCERを全身投与し炎症性膀胱組織内の菌の消長をbioautographyによって検討を加えた。その結果無処置群では12時間後に生菌の完全な発育阻止を認めたが、尿管皮膚瘻群では48時間まで完全な生菌の発育阻止は認められなかった。

以上の実験結果より下部尿路感染症に対する抗生物質の尿中濃度の意義はきわめて重要であり、その化学

療法には尿中排泄率の高い薬剤が必要であると考えられる。しかし尿路感染症の場が組織内で起こっている点から考えると血中→膀胱組織→膀胱尿由来の抗生物質も見のがすことはできない。

稿を終るに当り終始ご指導、ご校閲をいただきました恩師石神襄次教授に厚く感謝の意を表わすとともに、たえずご指導をいただきました原信二前助教授に深く感謝いたします。

## 参 考 文 献

- 1) 柴田勝博・ほか：生体の化学，**4**：235，1953.
- 2) 阿部信雄・ほか：日泌尿会誌，**32**：524，1943.
- 3) 小西武彦：日泌尿会誌，**48**：910，1957.
- 4) 犬塚 信：日泌尿会誌，**49**：785，1958.
- 5) 後藤甲子男：日泌尿会誌，**46**：745，1955.
- 6) 佐々木 寿：日泌尿会誌，**46**：152，1955.
- 7) 森島春男：日泌尿会誌，**47**：489，1956.
- 8) 佐波古直博：日泌尿会誌，**45**：496，1954.
- 9) Shoji, R.: J. Physiol., **54**：239，1920.
- 10) Marucci, H. D., Shoemaker, W. C., Wase, A. W., Strauss, H. D. & Geyer, S. V.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., **87**：569，1954.
- 11) Mann, F. C. & Magoun, J. A. H.: Am. J. med. sci., **166**：96，1923.
- 12) 陰山 正：泌尿紀要，**17**：255，1971.
- 13) 小田完五・ほか：Chemotherapy, **17**：1038，1969.
- 14) 老川隆幸・ほか：Chemotherapy, **18**：212，1970.
- 15) E. Tubaro & M. J. Bulgini: Separatum Experientia, **23**：310，1967.
- 16) 高瀬善行・ほか：魚病研究，**3**：93，1969.
- 17) 高瀬善行・ほか：魚病研究，**4**：45，1969.
- 18) 西村洋司・ほか：日泌尿会誌，**59**：520，1968.
- 19) 足立卓三・ほか：日泌尿会誌，**62**：220，1971.
- 20) Harild, S.: Hospitalstidende, **78**：281，1935.
- 21) 東福寺英之・ほか：臨泌，**21**：479，1967.
- 22) 竹内弘幸・ほか：臨泌，**22**：935，1968.
- 23) 吉田 泰：泌尿紀要，**13**：397，1967.
- 24) 斉藤豊一・ほか：日泌尿会誌，**56**：622，1965.
- 25) 山本隆司・ほか：日泌尿会誌，**56**：625，1965.
- 26) 稲田 務・ほか：泌尿紀要，**11**：241，1963.
- 27) 三橋慎一・ほか：臨皮泌，**20**：1299，1966.
- 28) Simmons, N. A. & Williams, J. D., Lancet, **1**：1377，1962.
- 29) Cohnheim, O.: Ztschr. f. Biol., **23**：330，1901.
- 30) 上田 泰・ほか：治療，**47**：1419，1965.
- 31) 中沢昭三：薬局，**16**：1249，1965.

(1973年2月12日受付)